

Producción de etanol por *Escherichia coli* etanológica en presencia de acetato de sodio

Marco T. Fernández Sandoval, Daniel Díaz López, Guillermo Gosset Lagarda, Alfredo Martínez Jiménez
Instituto de Biotecnología-UNAM. Av. Universidad 2001. Col. Chamilpa. Cuernavaca Mor. 62210

Fax: 317 2388. Correo electrónico: marcot@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Escherichia coli*, etanol, acetato.

Introducción. El uso de hidrolizados de residuos lignocelulósicos representa una opción para la generación de metabolitos de interés industrial como el etanol carburante. Sin embargo, estos hidrolizados contienen de 4-12 g/L de acetato (1) el cual es difícil y costoso de remover. En función del pH de cultivo, el acetato es tóxico aún a bajas concentraciones, afectando las velocidades de crecimiento celular y de producción de etanol con levaduras y bacterias.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto que tiene el acético/acetato sobre el crecimiento y la producción de etanol en una cepa homo-etanológica de *Escherichia coli* ($\Delta IdhA$, $\Delta adhE$, Δfrd , $P_{pflB}::pdc_{Zm}$, $adhA_{Zm}$).

Metodología. Los cultivos se llevaron a cabo en mini-fermentadores (200 mL) con pH controlado, sin aireación, en medio mineral-50 g/L de glucosa, 37°C y 100 rpm. Se evaluaron concentraciones de acetato de sodio de 0.5-40 g/L a pH 7, y por otro lado valores de pH de 5.8-7.0 con acetato de sodio (2 g/L). Se determinó el efecto sobre la velocidad específica de crecimiento (μ), consumo de glucosa, rendimiento y productividad de etanol.

Resultados y discusión. La μ se relacionó con la concentración no disociada del ácido acético, obtenida con la ecuación de Henderson-Hasselbalch (fig. 1). La concentración del ion acetato mostró una relación directa con la μ cuando se evaluaron diferentes valores de pH, por lo que no se consideró ser tan tóxico como el ácido acético.

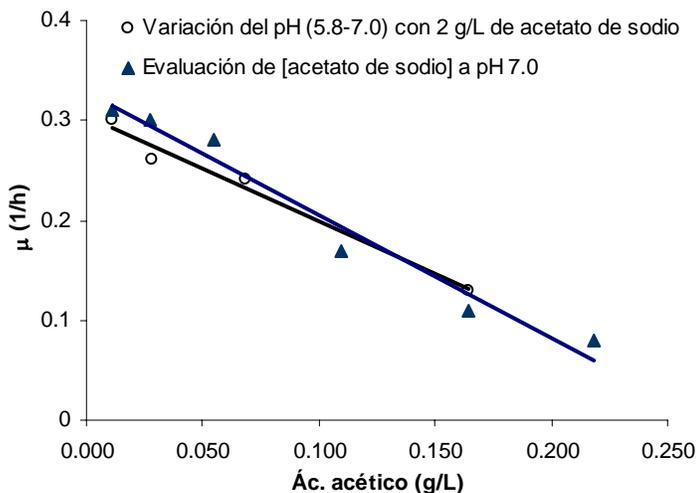


Fig 1. Relación entre la μ y la forma no disociada de ácido acético, evaluados a distintas concentraciones de acetato y pH

Sin embargo, La figura 1 muestra que la concentración de la forma no disociada del ácido acético afecta la μ de la cepa independientemente de la concentración de

acetato de sodio añadido o el valor de pH empleado. Este fenómeno se debe a que el ácido acético puede difundir a través de la membrana, acidificar el citoplasma, promover el incremento intracelular del ion acetato y generar gasto de ATP para expeler H^+ (2). Se estimó que la concentración de inhibición del crecimiento por ácido acético es de 280 mg/L.

En la tabla 1 se muestra el efecto del acetato de sodio sobre diversos parámetros cinéticos. La reducción de μ y la velocidad específica de consumo de glucosa se presentan a concentraciones mayores a 10 g/L, sin embargo, los parámetros de producción de etanol no se afectan en gran medida (q_p y Y_{ps}) por debajo de 30 g/L, quizá porque no se inhiben las enzimas de la vía fermentativa. La cepa etanológica tiene interrumpido el gene *pflB*, no permitiéndole generar acetyl Co-A en condiciones anaerobias, al parecer el acetato funciona como precursor de acetyl Co-A por vías alternativas (3).

Tabla 1. Parámetros cinéticos de *E. coli* etanológica a diferentes concentraciones de acetato de sodio (pH 7).

Acetato de sodio (g/L)	μ (h^{-1})	q_p ($g_{EtOH}/g_{Cel} h$)	$Y_{EtOH/Glc}$ (%)	Q_p ($g_{EtOH}/L h$)
0.5	0.17	0.95	74	0.2
5	0.30	1.00	93	0.7
10	0.28	0.92	88	0.7
20	0.17	0.8	86	0.32
30	0.11	0.55	82	0.17
40	0.08	0.41	77	0.06

Conclusiones. Bajas concentraciones de ácido acético afectan el crecimiento de esta cepa debido a que esta forma es más tóxica que el ion acetato acidificando principalmente el citoplasma. A pH 7, la cepa etanológica de *E. coli*, empleada en este trabajo, no sería inhibida por las concentraciones de acetato presentes en hidrolizados lignocelulósicos (4-12 g/L) como lo serían levaduras o *Zymomonas mobilis*.

Agradecimiento. Fondos CONACyT-EDO. MORELOS-2004-C02-048 y UNAM: PAPIIT-DGAPA-IN220908.

Bibliografía.

- Martínez, A., Rodríguez, M.E., Wells, M.L., York, S.W., Preston, J.F., Ingram, L.O. (2001). Detoxification of dilute acid hydrolysates of lignocellulose with lime. *Biotechnol. Prog.* 17(2): 287-293.
- Russell, J.B. (1992). Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. *J. Appl. Bact.* 73: 363-370.
- Wolfe, A. J. (2005). The acetate switch. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 69(1): 12-50.